

## اثر نانوذرات کرایزین در جلوگیری از رشد سلول های سرطانی MCF-7

محمد نوروزی (PhD)<sup>۱</sup>، سیده لیلا رضازاده (MSc)<sup>۲</sup>، علی اکبر مقدم نیا (Pharm D, PhD)<sup>۳</sup>، نادر بهرامی فر (PhD)<sup>۴</sup>،  
لادن براری (MSc)<sup>۳</sup>، سهراب کاظمی (PhD)<sup>۵\*</sup>

۱- گروه شیمی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۲- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

۳- مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران.

۴- گروه علوم زیستی، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس نور، نور، ایران

۵- مرکز تحقیقات علوم اعصاب، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

دریافت: ۹۷/۲/۸، اصلاح: ۹۷/۵/۱۴، پذیرش: ۹۷/۶/۱۳

### خلاصه

**سابقه و هدف:** کرایزین یک ترکیب طبیعی و فعال از لحاظ بیولوژیکی است که از گیاهان، عسل و پروپولیس استخراج می‌گردد. از آنجائیکه کرایزین دارای فعالیت‌های فارماکولوژیکی از جمله خصوصیات آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضدسرطانی است. این مطالعه به منظور مقایسه اثر کرایزین و نانوذره آن بر سلول‌های سرطان پستان (Michigan Cancer Foundation-7) انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه نانوذره کرایزین با استفاده از کیتوزان تهیه و در ادامه نانو ذره تهیه شده در آب حل شد و اثرات سایتوتوکسیسیته غلظت‌های ۴۰، ۲۰ و ۸۰ میکرومولار و کرایزین محلول در دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) در همین غلظتها بر سلول‌های MCF7 بررسی شد. زیستایی سلول‌ها با استفاده از آزمایش سنجش MTT بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت اندازه‌گیری و با زیستایی نمونه‌های کنترل مقایسه گردید.

**یافته‌ها:** نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که کرایزین و نانوذره کرایزین از رشد و تکثیر رده سلولی MCF7 سرطان پستان ممانعت نمود. این اثرات وابسته به غلظت کرایزین و نانو ذره آن بوده و نشان داده شد که نانو ذره کرایزین در غلظت ۴۰ میکرومولار در ۷۲ ساعت بعد از اثردهی بر سلول‌ها با  $p < 0.001$  معنی‌دار می‌باشد در صورتی که در همین غلظت در ۴۸ و ۲۴ ساعت بعد با  $p < 0.01$  معنی‌دار می‌باشد.  $IC_{50}$  نانوذره کرایزین تقریباً برابر با ۴۰ میکرومولار می‌باشد.

**نتیجه‌گیری:** نتایج مطالعه نشان داد که نانوذره کرایزین در محیط آزمایشگاهی، فعالیت ضدتکثیری بر روی سلول‌های سرطانی پستان از خود نشان داده و اثر آن از کرایزین بیشتر می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** کرایزین، نانوذره، MCF7، سرطان پستان.

### مقدمه

سرطان پستان به عنوان یکی از علل اصلی مرگ و میر ناشی از سرطان در زنان در سراسر جهان گزارش شد، که با ۱/۷ میلیون مورد بیماری و نیز در حدود نیم میلیون مرگ شناخته شده است (۱۰). این نوع از سرطان با تغییر تدریجی سلول‌های نرمال به سلول‌های سرطانی رخ می‌دهد. استروژن نقش اصلی را در رشد سلول‌های اپی‌تلیوم پستان و در نتیجه سرطان پستان بازی می‌کند (۱۱و۷). درمان این نوع سرطان متفاوت می‌باشد که می‌توان به روشهایی مانند شیمی درمانی، پرتو درمانی، ژن درمانی و جراحی اشاره کرد، اما این روشها دارای سطح بالایی از عوارض جانبی برای بیماران شده و همچنین بسیاری از بیماران با مقاومت دارویی در بدن نیز مواجه می‌شوند (۱۲). فلاونوئیدها دسته‌ای از ترکیبات طبیعی هستند که در گیاهان گسترش وسیعی دارند. این ترکیبات به عنوان یکی از بزرگترین گروه ترکیبات طبیعی شناخته می‌شوند و از آنتی‌اکسیدان‌های قوی هستند که اثرات مهمی را در بیولوژی سلولی

سرطان یکی از عوامل اصلی مرگ و میر در جهان است که از تکثیر غیر قابل کنترل سلول‌ها بوجود می‌آید (۱و۲) که موثر از عوامل محیطی از قبیل مواد شیمیایی، امواج کوتاه، ویروسها و یا یک موتاسیون ژنتیکی می‌باشد (۵-۳). آنتی‌اکسیدانت‌ها با فرایندهای فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی که مخصوصا در آن رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال تولید می‌شوند مرتبط هستند. تولید بیش از حد این گونه‌ها باعث ایجاد استرس اکسیداتیو در سلول می‌شود، و این درحالیست که سیستم آنتی‌اکسیدانی درون سلول قادر به مقابله با اثرات مخرب ROS همانند آنیون سوپر اکسید ( $O_2^-$ )، پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) و رادیکال هیدروکسیل ( $OH$ ) نمی‌باشند (۷و۶). استرس اکسیداتیو شامل آسیب به مولکول‌های زیستی نظیر DNA، لیپیدهای غشایی و آنزیم‌ها است که در نهایت منجر به بروز بیماری‌هایی نظیر سرطان و بیماری‌های عصبی وابسته به سن می‌گردد (۹و۸). در سال ۲۰۱۲

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره ۹۷۰۵۲۱۱ دانشگاه علوم پزشکی بابل می‌باشد.

\* مسئول مقاله: دکتر سهراب کاظمی

آدرس: بابل، دانشگاه علوم پزشکی، پژوهشکده سلامت، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی. تلفن: ۰۱۱-۳۲۱۹۹۵۹۶

E-mail: kazemi.msm@gmail.com

**تعیین اندازه نانوذره کرایزین:** جهت تعیین اندازه ذرات نانوذره از دستگاه میکروسکوپ الکترونی (SEM) کمپانی (JEOL JBX-6300FS) استفاده شد و برای تعیین مقدار کیتوسان در فرآیند سنتز نانوذره نیز از اسپکترفوتومتر (UV-vis, 7205, Jenway Co., United Kingdom) و در ادامه از دستگاه FT-IR شرکت (Nicolette is50, America, Thermo Fisher scientific) جهت شناسایی گروههای عاملی استفاده شد.

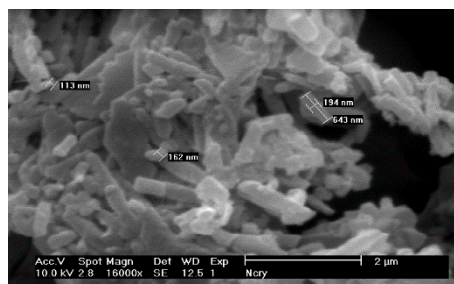
**بررسی میزان بقا و تکثیر (سمیت) سلولی با روش MTT Assay:** در این مطالعه تجربی با کد اخلاق IR.MUBABOL.HRI.1397.039 رده سلولی سرطانی MCF7 که از بانک سلولی انستیتو پاستور تهران خریداری شدند در محیط کشت RPMI حاوی ۱۰ درصد FBS و ۱ درصد پنی سیلین-استرپتومایسین درون انکوباتور CO<sub>2</sub> با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و رطوبت کافی کشت داده شدند. برای بررسی اثر نانوذره کرایزین و کرایزین بر رشد و تکثیر سلولهای سرطانی از آزمون رنگ سنجی MTT استفاده گردید. در این روش، تعداد ۱۰۴ سلول در هر خانه پلیت ۹۶ کاشته شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون غلظت‌های مختلف کرایزین (حل شده در DMSO) و نانو ذره کرایزین (حل شده در آب) ۲۰، ۴۰، ۸۰ میکروگرم بر میلی لیتر به سلول‌ها اضافه شد و در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انکوبه شدند. پس از این مدت، سلول‌ها ۴ ساعت در معرض رنگ MTT (۵ میلی گرم بر میلی لیتر) قرار گرفته و برای حل کردن کریستال‌های فورمازان محلول DMSO به سلول‌ها اضافه شد. میزان جذب نوری سلول‌ها و تغییر رنگ ترکیب MTT افزوده شده به آن‌ها در طول موج مشخص (۵۷۰ نانومتر) با استفاده از دستگاه الایزا ریدر قرائت گردید. هرکدام از این آزمایش‌ها سه بار تکرار شد و میزان بقای سلولی طبق فرمول زیر محاسبه گردید.

$$\text{درصد میزان بقای سلولی} = \frac{\text{جذب نوری تست}}{\text{جذب نوری کنترل}} \times 100$$

**تحلیل آماری:** نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS ۱۶ محاسبه شد و رابطه بین درصد بقای سلولی و غلظت نانو ذره اعمال شده به روش آنالیز واریانس یک طرفه (way-One ANOVA) و با پس آزمون توکی به دست آمده است و  $p < 0.05$  معنی دار در نظر گرفته شد.

### یافته ها

نانو ذرات کرایزین با موفقیت سنتز و با استفاده از تکنیک SEM و FT-IR شناسایی شد، نتایج آزمایش نشان می‌دهد که نانوذرات کرایزین استوانه‌ای شکل بوده و میانگین اندازه ذرات آن نیز ۱۵۰ نانومتر می‌باشد (شکل ۱ و ۲).



شکل ۱. تصویر نانوذره کرایزین با میکروسکوپ الکترونی (SEM)

دارند. یکی از این اثرات مهم در جمع آوری رادیکالهای آزاد است که علاوه بر آسیب به سلولها، در گسترش تومورهای سرطانی نقش بسزایی دارند. تحقیقات نشان داده که این مواد نقش مهمی در جلوگیری از جهش‌های ژنی و گسترش تومورهای سرطانی دارد (۷ و ۱۳). کرایزین (۵، ۷ دی هیدروکسی فلاون) فلاونوئید طبیعی استخراج شده از پروپولیس می‌باشد که در عسل طبیعی هم یافت می‌شود و دارای خاصیت ضد باکتریایی، ضد التهابی، آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی است (۱۴). همچنین در گزارشات پزشکی عسل را به عنوان پوششی (درمان) بر روی زخم و سوختگی نشان داده‌اند (۱۵). اثرات بالقوه آپوپتوزی کرایزین، مکانیسم کلیدی مولکولی مسئول فعالیت ضد سرطانی در سرطان پستان و معده می باشد که در مطالعات مختلف گزارش شده است (۱۶). علی‌رغم اثرات مطلوب کرایزین، انحلال پذیری ناچیز آن در آب سبب نفوذ پذیری ضعیف آن بر سلولهای سرطانی و عدم قابلیت دسترسی بیولوژیکی می‌شود که منجر به کاهش اثر بخشی آن گردیده است. لذا در این مطالعه با سنتز نانوذره کرایزین حلالیت آن را در آب افزایش داده و همچنین با استفاده از فناوری نانو سبب افزایش اثر بخشی کرایزین، کاهش سمیت و افزایش نیمه عمر نانوذره می شود. این مطالعه به منظور مقایسه اثر کرایزین و نانوذره آن بر سلولهای سرطان پستان (MCF7) انجام شد.

### مواد و روش ها

**مواد:** مواد شیمیایی مورد استفاده در این آزمایش از نوع آنالیز انتخاب شده است. کیتوزان، کرایزین از شرکت سیگما آلدردیج خریداری شد. حلال‌های استونیتریل، متانول و آب از نوع HPLC، از مرک آلمان تهیه شد. سلول سرطانی MCF7 نیز از انستیتو پاستور تهران تهیه شد. سرم جنین گاوی (FBS)، تریپسین EDTA و RPMI-1640 نیز از کمپانی Gibco انگلستان خریداری شد. سایر مواد مورد مصرف در این آزمایش از کمپانی سیگما تهیه شدند. از دستگاه فریز درایر شرکت (Labconco) آمریکا جهت حذف حلال و خشک کردن نانوذرات کرایزین استفاده گردید و در ادامه برای تعیین ظرفیت بارگذاری نانوذرات کرایزین از کروماتوگرافی با عملکرد بالا از شرکت (Knauer) آلمان استفاده شد.

**سنتز نانوذره کرایزین:** برای تهیه نانوذرات کرایزین از کیتوزان با وزن مولکولی پایین استفاده شده است، کیتوزان در آب شامل ۰/۰۱٪ استیک اسید در شرایط استیرر حل شد و برای جلوگیری از تشکیل توده، به محلول توبین (۸۰) ۱٪ اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت روی استیرر قرار گرفت سپس با دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتیفریوژ شد، رسوب به مدت ۲۴ ساعت در فریزر ۸۰- ذخیره گردید. سپس رسوب بدست آمده در آب حل شد و با کرایزین حل شده در کمترین مقدار DMSO به صورت قطره قطره مخلوط شد. محلول ۰/۱٪ تری پلی فسفات قطره قطره به نمونه بالا اضافه و مجدداً با دور ۱۴۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتیفریوژ شد، در ادامه رسوب به دست آمده با استفاده از دستگاه فریز درایر خشک شد (۱۷).

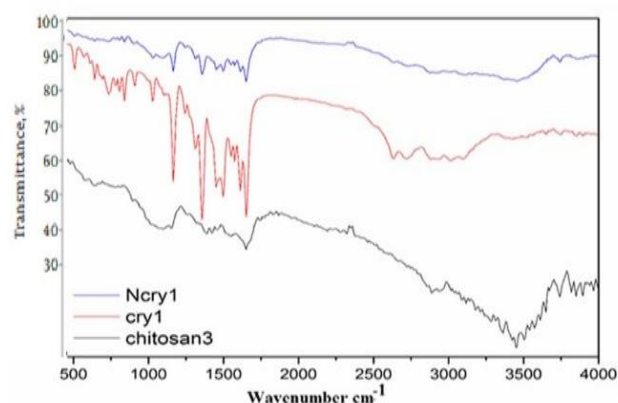
**تشخیص و تعیین راندمان نانوذره کرایزین با روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC):** مقدار کرایزین بارگذاری شده بر روی نانوذرات کیتوزان با استفاده از دستگاه HPLC فاز معکوس ایزوکراتیک تعیین مقدار شد. جهت آنالیز از پروتکل HPLC با فاز متحرک شامل استونیتریل و آب با نسبت ۲۰ به ۸۰ و فاز ساکن C18، ۵ μm و طول ۲۵ سانت با سرعت فاز متحرک ۰/۸ میلی لیتر بر دقیقه استفاده شد. میزان جذب با دکتور UV در طول موج ۲۷۰ نانومتر خوانده شد.

$$(۱) \quad \text{درصد محتوای بارگذاری کرایزین} = \frac{\text{مقدار کرایزین در نانوذره}}{\text{کل کرایزین اضافه شده}} \times 100$$

$$(۲) \quad \text{درصد راندمان نانوذره} = \frac{\text{وزن کل نانو ذره}}{\text{وزن کیتوزان و کرایزین اضافه شده}} \times 100$$

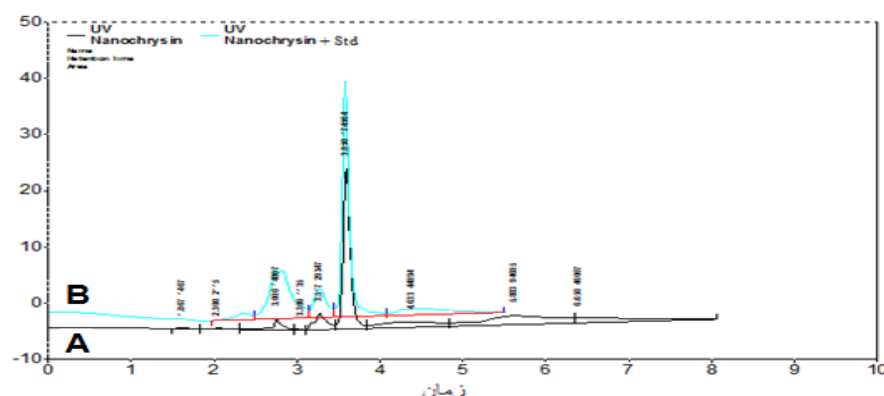
**اندازه گیری سمیت سلولی:** اثر مهاری نانو ذره کرایزین و کرایزین در تکثیر سلول های MCF7 در غلظت های ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میکرومولار نشان داده شد. با توجه به نتایج حاصل از این آزمایش عدم رشد و فعالیت سلول های سرطانی کاهش بیشتری را در نانوذره کرایزین در مقایسه با کرایزین تفاوت آماری معنی داری در غلظت ۴۰ میکرومولار ( $P < 0.01$ ) و در ۷۲ ساعت ( $P < 0.001$ ) نشان داد (شکل ۴). میزان IC50 در زمان ۲۴ ساعت برابر با  $95 \pm 2/45$  میکرومولار، در زمان ۴۸ ساعت برابر با  $84 \pm 1/45$  میکرومولار و بعد از ۷۲ ساعت برابر با  $58 \pm 1/3$  میکرومولار می باشد. میزان عدم رشد سلول ها در غلظت یکسان نانو ذره کرایزین (۸۰ میکرومولار) که با زمان انکوباسیون مختلف همراه بود کاهش معنی داری را نشان داد. حداقل فعالیت سلولی در درمان با ۸۰ میکرومولار نانو ذره کرایزین برای ۷۲ ساعت مشاهده شد. میزان مهار شدگی وابسته به دوز و زمان بود و بیشترین میزان مهار ۸۲٪ بدست آمد (شکل ۵).

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که نانوذره کرایزین در مقایسه با کرایزین تاثیر بیشتری در مهار رشد و مرگ سلول های سرطانی دارد.

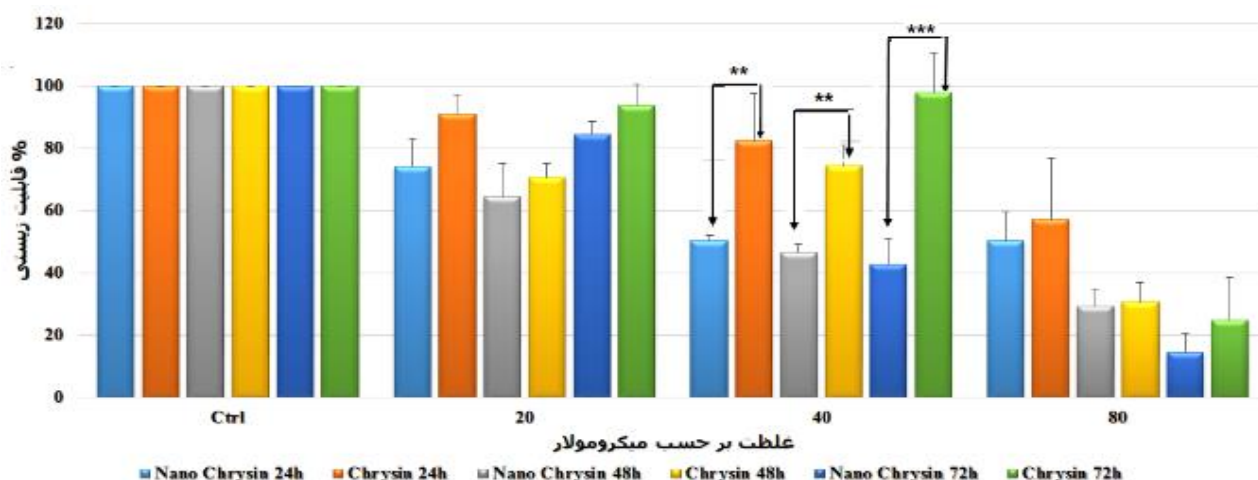


شکل ۲. کروماتوگرام به دست آمده از FTIR مربوط به کیتوزان، کرایزین و نانوذره کرایزین

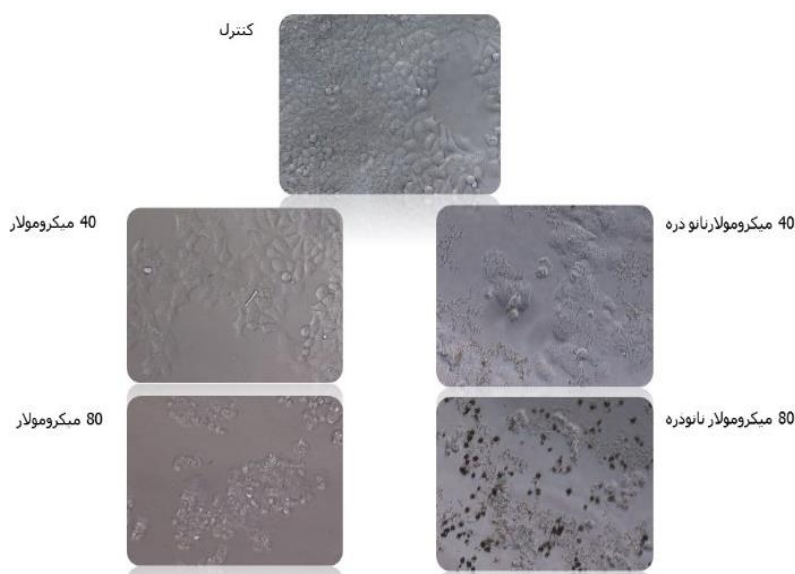
**تعیین درصد کرایزین لود شده روی نانوذره بر به روش HPLC:** جهت تعیین مقدار کرایزین لود شده روی نانو ذره از تکنیک HPLC استفاده شد. مقادیر نانوذرات و محتوای بارگذاری دارویی با معادلات (۱) و (۲) محاسبه شد (۱۸). کرایزین بارگیری شده روی نانوذرات کیتوزان با استفاده از معادلات (۱) و (۲) از طریق تجزیه و تحلیل HPLC محاسبه شدند که ۵ درصد بود (شکل ۳).



شکل ۳. کروماتوگرام به دست آمده از روش HPLC (A، نانوذره کرایزین، B) کرایزین استاندارد 5PPM



شکل ۴. اثر سمیت سلولی کرایزین و نانوذره کرایزین بر رده سلولی MCF7 با تست MTT در زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت، تفاوت آماری معنی داری در غلظت ۴۰ میکرومولار ( $P < 0.01$ ) و در ۷۲ ساعت تفاوت آماری معنی داری ( $P < 0.001$ )



شکل ۵. اثر سمیت کرایزین و نانوذره کرایزین بر رده سلولی MCF7 در غلظت‌های ۴۰ و ۸۰ میکرومولار با تست MTT

### بحث و نتیجه گیری

براساس نتایج این مطالعه، اثر مهارى نانوذرات کرایزین و کرایزین بر سلول‌های MTT در زمانهای ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از اثر مشاهده شد. آزمون MTT نشان داد که با افزایش دوز دارو و زمان، اثرات سمیت افزایش مییابد، که به این واقعیت اشاره دارد که این داروها به صورت وابسته به زمان و وابسته به دوز، سلولهای سرطان سینه (MCF7) را تحت تاثیر قرار می دهد. نتایج نشان داد که کرایزین خالص دارای غلظت مهارى سیتوتوکسیک IC50 در زمان ۲۴ ساعت برابر با  $95 \pm 2/45$  میکرومولار می باشد. این اثر در زمان ۴۸ ساعت برابر با  $84 \pm 1/45$  میکرومولار و بعد از ۷۲ ساعت برابر با  $58 \pm 1/3$  میکرومولار می باشد در صورتی که نتایج حاصل از اثر  $40 \pm 1/2$  میکرومولار نانوذره کرایزین در زمان ۲۴ ساعت و  $38 \pm 2/8$  میکرومولار بعد از ۴۸ ساعت و بعد از ۷۲ ساعت اثر دهی  $35 \pm 1/4$  میکرومولار نانوذره کرایزین محاسبه شد. یکی از روش های جدید در درمان سرطان، انتقال مستقیم داروهای ضد سرطان به تومور می باشد. استفاده از فناوری نانو در درمان سرطان، یکی از جدیدترین روشهای کاربردی انتقال هدفمند دارو است (۱۹). نانوحامل‌های زیست تخریب پذیر برای انتقال هدفمند داروهای گوناگون، برای کاهش یا به حداقل رساندن تعاملات نامطلوب یا جذب ناخواسته در مکان‌های طبیعی توسعه یافته اند.

فرمولاسیون نانوذرات مواد شیمی به منظور فراهم آوردن اثر موثر درمانی در محل مناسب ساخته شده اند و ممکن است در درمان سرطان مفید باشد. فلاتونوئیدها ترکیباتی هستند که معمولاً مانع تکثیر سلولی هستند. اثرات ضد تکثیر ترکیبات فلاتونوئیدها بر روی سلول‌های سرطانی در چندین مطالعه گزارش شده است (۲۱ و ۲۰). اثرات ضد تکثیر و رشد در سلول‌های سرطانی از طریق القاء آپوپتوز یا مهار چرخه سلولی توسط فلاتونوئیدها انجام می‌شود (۲۳ و ۲۲). کرایزین فلاتونوئید طبیعی است که در عسل، گیاهان و پروپولیس یافت می‌شود. مطالعات مختلف نشان می‌دهد در صورت استفاده از مواد غذایی حاوی فلاتونوئیدها خطر ابتلا به سرطان کاهش می‌یابد (۲۵ و ۲۴ و ۱۵). براساس این مطالعه، غلظتهای ۴۰ و ۸۰ میکرومولار

نانوذرات کرایزین و ۸۰ میکرومولار کرایزین در برابر سلول‌های سرطان پستان اثربخش بودند. نانوذرات کرایزین در مهار رشد سلول‌های MCF-7 در غلظت‌های ۴۰ و ۸۰ میکرومولار از کرایزین موثرتر بودند. تحقیقات ما شواهدی را ارائه می‌دهد که نانوذرات کرایزین باعث کاهش میزان تکثیر سلول‌های سرطانی MCF-7 و جلوگیری از رشد کلنی‌های MCF-7 نسبت به کرایزین می‌شوند. این یافته‌ها معمولاً با نتایج آزمایش‌هایی که در مورد مهار تکثیر سلولی وابسته به دوز و زمان می‌باشد مطابقت دارد. مطالعات مختلف نشان می‌دهد که استفاده از نانو ذرات کرایزین باعث کاهش میزان تکثیر سلول‌های سرطانی MCF-7 می‌شود (۲۸-۲۶)، در صورتی که میزان اثر بخشی نانوذره تهیه شده در این روش به مراتب بیشتر از سایر روشها می‌باشد و در این آزمایش نانو ذره کرایزین در دوزهای به مراتب کمتر اثر بخشی بیشتری را بر سلول‌های سرطانی MCF-7 از خود نشان داده است. از مزیت‌های دیگر این روش استفاده از ترکیبات زیست تخریب پذیری است که هیچ اثر سویی بر سلولهای سالم ندارند.

در این مطالعه نشان داده شد که IC50 نانوذره کرایزین بسیار پایین بوده و در غلظت ۴۰ میکرومولار موجب مرگ سلولی می‌شود در نتیجه اثر مهارى که نانو ذره کرایزین بر سلول‌های سرطانی پستان دارد بیشتر از کرایزین خالص است. این اثر از مکانیسمی پیش می‌رود که مانع پیشرفت چرخه سلولی از G1 به مرحله S و افزایش مرگ سلولی و آپوپتوز در سلول‌های MCF7 می‌شود. بر طبق نتایج این آزمایش، می‌توان از نانوذره کرایزین در پروتکل‌های آزمایشی in vivo جهت درمان سرطان پستان استفاده کرد.

### تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی بابل جهت حمایت مالی از این تحقیق و همچنین از همکاری خانم سیده نرگس موسوی کانی تقدیر و تشکر می‌گردد.

## The Effect of Chrysin Nanoparticles in Preventing the Growth of MCF-7 Cancer Cells

M. Norouzi (PhD)<sup>1</sup>, S.L. Rezazadeh (MSc)<sup>2</sup>, A.A. Moghadamnia (PhD)<sup>3</sup>, N. Bahramifar (PhD)<sup>4</sup>,  
L. Barari (MSc)<sup>3</sup>, S. Kazemi (PhD)<sup>5\*</sup>

1.Department of Chemistry, Payame Noor University, Tehran, I.R.Iran

2.Student Research Committee, Babol University of Medical Science, Babol, I.R.Iran.

3.Cellular and Molecular Biology Research Center, Health Research Center, Babol University of Medical Sciences, Babol, I.R.Iran

4.Department of Environmental Science, Faculty of Natural Resources and Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, I.R.Iran

5.Neuroscience Research Center, Health Research Institute, Babol University of Sciences, Babol, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 20(10); Oct 2018; PP: 56-62

Received: Apr 28<sup>th</sup> 2018, Revised: Aug 5<sup>th</sup> 2018, Accepted: Sep 4<sup>th</sup> 2018.

### ABSTRACT

**BACKGROUND AND OBJECTIVE:** Chrysin is a natural and biologically active compound extracted from plants, honey and propolis. Since chrysin has pharmacological activities such as antioxidant, anti-inflammatory and anti-cancer properties, this study was conducted to compare the effect of chrysin and its nanoparticle on breast cancer cells (Michigan Cancer Foundation-7).

**METHODS:** In this study, chrysin nanoparticles were prepared using chitosan, and then the prepared nanoparticles were dissolved in water, and the cytotoxic effects of 20, 40 and 80  $\mu$ M chrysin and chrysin dissolved in dimethyl sulfoxide (at the same concentrations) on MCF7 cells were investigated. Cell viability was measured using MTT assay after 24, 48 and 72 hours, and was compared with viability of the control samples.

**FINDINGS:** The results of this study showed that chrysin and chrysin nanoparticles prevented the growth and proliferation of MCF7 cell line. These effects depend on the concentration of chrysin and its nanoparticles, and it has been shown that the effect of chrysin nanoparticle on cells at a concentration of 40  $\mu$ M in 72 hours is significant with  $p < 0.001$  while it is significant with  $p < 0.01$  at the same concentration in 24 and 48 hours. The IC<sub>50</sub> value of chrysin nanoparticle was approximately 40  $\mu$ M.

**CONCLUSION:** The results of the study showed that the chrysin nanoparticle exhibits anti-proliferative activity in breast cancer cells in the laboratory and its effect is greater than that of chrysin.

**KEY WORDS:** Chrysin, Nanoparticle, MCF7, MTT, Breast Cancer.

### Please cite this article as follows:

Norouzi M, Rezazadeh SL, Moghadamnia AA, Bahramifar N, Barari L, Kazemi S. The Effect of Chrysin Nanoparticles in Preventing the Growth of MCF-7 Cancer Cells. J Babol Univ Med Sci. 2018;20(10):56-62.

\*Corresponding Author: Sohrab Kazemi (PhD)

Address: Cellular and Molecular Biology Research Center, Health Research Center, Babol University of Medical Sciences, Babol, I.R.Iran

Tel: +98 11 32199596

E-mail: Kazemi.msm@gmail.com



## References

1. Noori Dalooi MR, Fazilaty H, Tabrizi M. Cancer metastasis, genetic and microenvironmental factors of distant tissue. *Tehran Univ Med J*. 2012;70(11):671-83.
2. Amini Sarteshnizi N, Teimori H, Zahri S, Mobini Dehkordi M, Khosravi S, Amini Sarteshnizi R. Effect of Chrysin on AGS human gastric cancer cell line. *J Gorgan Univ Med Sci*. 2015;16(4):63-8.[In Persian]
3. Parsa N. Molecular and Cellular Basis of Human Cancer. *J Cell Tissue*. 2012;2(4):365-76.
4. Kazemi S, Mousavi SN, Aghapour F, Rezaee B, Sadeghi F, Moghadamnia AA. Induction effect of bisphenol A on gene expression involving hepatic oxidative stress in rat. *Oxid Med Cell Longevity*. 2016; 2016, Article ID 6298515.
5. Rafati-Rahimzadeh M, Rafati-Rahimzadeh M, Kazemi S, Moghadamnia AA. Cadmium toxicity and treatment: An update. *Caspian J Intern Med*. 2017;8(3):135-45.
6. Davatgaran-Taghipour Y, Masoomzadeh S, Farzaei MH, Bahramsoltani R, Karimi-Soureh Z, Rahimi R, et al. Polyphenol nanoformulations for cancer therapy: experimental evidence and clinical perspective. *Int J Nanomedicine*. 2017;12:2689-702.
7. Moghadamnia Y, Mousavi Kani SN, Ghasemi-Kasman M, Kazemi Kani MT, Kazemi S. The anti-cancer effects of capparispinosa hydroalcoholic extract. *Avicenna J Med Biotechnol*. 2019;11(2).
8. Chen X, Guo C, Kong J. Oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Neural Regen Res*. 2012;7(5):376-85.
9. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev*. 2010;4(8):118-26.
10. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 2015;136(5): E359-86..
11. Russo J, Snider K, Pereira JS, Russo IH. Estrogen-induced breast cancer is the result of disruption of asymmetric cell division of the stem cell. *Horm Mol Biol Clin Investig*. 2011;1(2):53-65.
12. Wong H, Yau T. Molecular targeted therapies in advanced gastric cancer: does tumor histology matter? *Therap Adv Gastroenterol*. 2013;6(1):15-31.
13. Dolat E, Hasanzadeh H, Rezaei Tavirany M, Heidari kashl S, Jabbari Arfaee A, Seyyedi SS, et al. Evaluation of synergistic effect of tio2 nanoparticles and gamma rays on human breast cancer cell line. *Sci J Ilam Univ Med Sci*. 2013;20(4):225-30.[In Persian]
14. Pordel M, Baharara J, Amini E. Cytotoxic and antioxidant effect of chrysin on neonate mouse spermatogenic stem cells. *Feyz J Kashan Univ Med Sci*. 2017;21(2):126-33.[In Persian]
15. Samarghandian S, Afshari JT, Davoodi S. Chrysin reduces proliferation and induces apoptosis in the human prostate cancer cell line pc-3. *Clinics (Sao Paulo)*. 2011;66(6):1073-9.
16. Askarian Dehkordi N, Shirzad H, Salimzadeh L, Zamanzad B, Meshkate R, Kiyani M. Effects of Chrysin plant flavonoid on proliferation and apoptosis of gastric cancer cell line (AGS). *J HerbMed Pharmacol*. 2014;3(2):125-8.
17. Sridevi Sangeetha KS, Umamaheswari S, Umamaheswara R, Narayana Kalkura S. chrysin loaded chitosan nanoparticle: formulation and in-vitro characterization. *Int J Pharmaceut Sci Res*. 2018;8(3):1102-9.
18. Kazemi S, Mousavi Kani SN, Ghasemi-Kasman M, Aghapour F, Khorasani H, Moghadamnia AA. Nonylphenol induces liver toxicity and oxidative stress in rat. *Biochem Biophys Res Commun*. 2016;479(1):17-21.
19. Beg MS, Dwivedi AK, Ahmad SA, Ali S, Olowokure O. Impact of diabetes mellitus on the outcome of pancreatic cancer. *PLoS One*. 2014;9(5):e98511.
20. Mirossay L, Varinská L, Mojžiš J. Antiangiogenic Effect of Flavonoids and Chalcones: An Update. *Int J Mol Sci*. 2017;19(1):pii:E27
21. Ryu S, Lim W, Bazer FW, Song G. Chrysin induces death of prostate cancer cells by inducing ROS and ER stress. *J Cell Physiol*. 2017;232(12):3786-97.

22. Afsar T, Trembley JH, Salomon CE, Razak S, Khan MR, Ahmed K. Growth inhibition and apoptosis in cancer cells induced by polyphenolic compounds of *Acacia Hydaspica*: involvement of multiple signal transduction pathways. *Sci Rep*. 2016;6:23077.
23. Watanabe MA, Amarante MK, Conti BJ, Sforcin JM. Cytotoxic constituents of propolis inducing anticancer effects: a review. *J Pharm Pharmacol*. 2011;63(11):1378-86.
24. Sak K. Epidemiological Evidences on Dietary Flavonoids and Breast Cancer Risk: A Narrative Review. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2017;18(9):2309-28.
25. Fauzi AN, Norazmi MN, Yaacob NS. Tualang honey induces apoptosis and disrupts the mitochondrial membrane potential of human breast and cervical cancer cell lines. *Food Chem Toxicol*. 2011;49(4):871-8.
26. Anari E, Akbarzadeh A, Zarghami N. Chrysin-loaded PLGA-PEG nanoparticles designed for enhanced effect on the breast cancer cell line. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*. 2016;44(6):1410-6.
27. Kasala ER, Bodduluru LN, Madana RM, Gogoi R, Barua CC. Chemopreventive and therapeutic potential of chrysin in cancer: mechanistic perspectives. *Toxicol Lett*. 2015;233(2):214-25.
28. Mohammadian F, Abhari A, Dariushnejad H, Nikanfar A, Pilehvar-Soltanahmadi Y, Zarghami N. Effects of chrysin-PLGA-PEG nanoparticles on proliferation and gene expression of miRNAs in gastric cancer cell line. *Iranian J Cancer Prev*. 2016;9(4):e4190.